

☐ Generate Collection M  
1  
Apr 24, 1991

L1: Entry 1 of 2

File: JPAB

PUB-NO: JP403099096A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 03099096 A

TITLE: LENGTH CONTROL OF SHORT FIBER-TYPE HELICAL MOLECULE ASSOCIATED FORM

PUBN-DATE: April 24, 1991

## INVENTOR-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

SHIMIZU, TOSHIMI

NAMIKAWA, HIROYUKI

HADO, MASAKATSU

## ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

AGENCY OF IND SCIENCE &amp; TECHNOL

APPL-NO: JP01235169

APPL-DATE: September 11, 1989

US-CL-CURRENT: 530/402

INT-CL (IPC): C07K 5/10; C07K 1/00; C07K 5/06; C07K 5/08; C07K 7/06

## ABSTRACT:

PURPOSE: To accomplish length control of the title associated form for use in e.g. the bioindustry by dispersing in distilled water a specific amphiphatic peptide together with alkali (alkaline earth) metal cation with the kind or concentration of said cation regulated.

CONSTITUTION: When an amphiphatic peptide of the formula (X is halogen; R is dodecyl group; (n) is integer, 1-6) (e.g. L-prolyl-L-prolyl-L-prolyl-L-glutamic acid didodecylamide hydrochloride) is to be dispersed in distilled water together with alkali (alkaline earth) metal cation (e.g. barium carbonate), the kind or concentration of said cation is regulated and ultrasonic treatment is made at 70°C for 1min using e.g. a probe-type ultrasonic instrument followed by leaving the system to stand at room temperature for 13 days, thus obtaining the objective short fiber-type helical molecule associated form with its length controlled.

COPYRIGHT: (C)1991, JPO&amp;Japio

## End of Result Set

☐ Generate Collection 

L1: Entry 2 of 2

File: DWPI

Apr 24, 1991

DERWENT-ACC-NO: 1991-167183  
 DERWENT-WEEK: 199123  
 COPYRIGHT 2003 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Control of length of short phase helical molecule associate - by dispersing amphiphilic peptide in distilled water contg. alkali (earth) meta cation

PATENT-ASSIGNEE: AGENCY OF IND SCI & TECHNOLOGY (AGEN)

PRIORITY-DATA: 1989JP-0235169 (September 11, 1989)

## PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 03099096 A	April 24, 1991		000	
JP 93047556 B	July 19, 1993		004	C07K005/04

## APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP 03099096A	September 11, 1989	1989JP-0235169	
JP 93047556B	September 11, 1989	1989JP-0235169	
JP 93047556B		JP 3099096	Based on

INT-CL (IPC): C07K 1/02; C07K 5/04; C07K 5/10; C07K 7/06; C07K 99/00

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 03099096A

## BASIC-ABSTRACT:

In dispersion of amphiphilic peptide of formula (I) in distilled water with alkali metal cation or alkaline earth metal cation, kind or concn. of metal cation is regulated for control length of short fibre type helical molecule associate. In (I) X is halogen, R is dodecyl, n is numerical No. 1-6).

Pref. dispersing concn. of amphiphilic peptide (I) in distilled water is pref. 10 power(-5) - 10 power(-1) mol/l. Pref. mol. ratio of alkali metal cation or alkaline earth metal cation against amphiphilic peptide is 0.5-10 equiv. As alkali metal cation, e.g. Na(K) chloride, carbonate, sulphate, as alkaline earth metal cation, e.g. Ba(Ca) chloride, carbonate, sulphate are pref. used.

USE/ADVANTAGE - By control method of this invention, length of short fibre type helical molecule associate can be controlled at optional and homogeneous length (below 15 micron) that cannot obtain from vital lipid.

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 03099096A

## EQUIVALENT-ABSTRACTS:

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

DERWENT-CLASS: B03 B04

CPI-CODES: B04-C01A; B05-A01A; B05-A01B; B07-D03;

⑦ 公開特許公報(A) 平3-99096

⑧ Int. Cl.<sup>5</sup> 識別記号 庁内整理番号 ⑨ 公開 平成3年(1991)4月24日  
 C 07 K 5/10 Z NA 8318-4H  
 1/00 8318-4H  
 5/06 Z 8318-4H  
 5/08 8318-4H  
 7/06 Z 8318-4H  
 // C 07 K 99:00  
 審査請求 有 請求項の数 1 (全6頁)

⑩ 発明の名称 短繊維型螺旋状分子会合体の長さ制御方法

⑪ 特 願 平1-235169

⑫ 出 願 平1(1989)9月11日

⑬ 発 明 者 清水 敏 美 茨城県つくば市松代4丁目 402棟401号  
 ⑭ 発 明 者 南 川 博 之 茨城県つくば市竹園3丁目 301棟111号  
 ⑮ 発 明 者 羽 藤 正 勝 茨城県つくば市吾妻2丁目 807棟708号  
 ⑯ 出 願 人 工業技術院長 東京都千代田区霞が関1丁目3番1号  
 ⑰ 指定代理人 工業技術院繊維高分子材料研究所長

明 細 書

短繊維型螺旋状分子会合体の長さ制御方法。

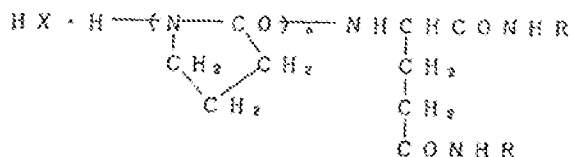
1. 発明の名称 短繊維型螺旋状分子会合体  
 の長さ制御方法

3. 発明の詳細な説明

2. 特許請求の範囲

産業上の利用分野

一般式



(式中のXはハロゲン原子、Rはドデシル基、  
 nは1～6の整数である)

本発明は、特種なアミノ酸残基を含む両親媒性ペプチドをアルカリ金属カチオンまたはアルカリ土類金属カチオンと共に水中に分散させ、室温下熟成する際、金属カチオンの種類または金属カチオンの濃度を調節することにより、短繊維型の螺旋状分子会合体の長さを制御する方法に関するものである。この発明の産業上の利用分野としては、会合体の特殊な形態を必要とするバイオインテグレートリー、医薬工業分野、精密工業分野、さらに学術研究用分野まで多岐にわたっている。

で表わされる両親媒性ペプチドを、アルカリ金属カチオンまたはアルカリ土類金属カチオンと共に蒸留水に分散させる際、金属カチオンの種類または金属カチオンの濃度を調節することを特徴とす

従来の技術

従来の技術としては、天然由来のリン脂質を用いた分子会合体の製造方法がある。しかし、その製造方法によって得られる分子会合体の形態は球

状のみであり、その利用は医療用マイクロカプセル材料等に限定されていた。

さらに、一般の両親媒性ペプチドを金属カチオンを共存させないで水中、熟成した場合、得られる分子集合体の形態は長さが50 $\mu$ m以上の長繊維型の棒状あるいはひも状である。そればかりか、任意の希望とする長さを得るための制御は不可能であり、分子集合体の多分野にわたる有効利用の妨げとなっている。

#### 発明が解決しようとする問題点

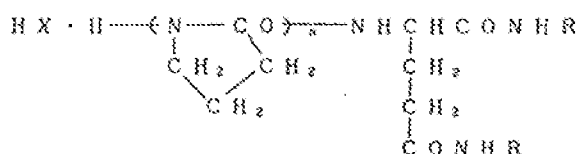
本発明者は、天然リン脂質からは生成し得ない短繊維型の螺旋状分子集合体の長さを簡単に制御する方法を開発するため鋭意研究を重ねた結果、ある種のアミノ酸残基から構成される両親媒性ペプチドと所定量のアルカリまたはアルカリ土類金属カチオンを水中で熟成することによって、その目的に適合しうることを見出し、この知見に基づいてこの発明をなすに至った。

水に分散せず不溶となる。nは1から6の整数である。nが1以下(アミノ酸残基を含まない場合)であると、分子の親水性が長鎖アルキル基の疎水性に比較して弱くなり良好な両親媒性が得られない。又、nが6以上になると、逆にペプチドの親水性がアルキル基の疎水性よりも強くなり、やはり両親媒性が得られない。分子が両親媒性を示すためには、nは3または4が好ましい。

この一般式で表わされる化合物は、例えば、N端は保護され、C端はフリーのプロリン残基からなるオリゴペプチドとグルタミン酸ジドデシルアミド臭化水素酸塩をジエチルフォスフォロシアニデート(DEPC)やジフェニルフォスホリルアジド(DPPA)でカップリングすることによって得られる。得られた化合物は室温で固体であり、このものに、 $10^{-5}$ ~ $10^{-1}$ Eq/l程度の濃度になるよう蒸留水を加える。 $10^{-1}$ Eq/l以上であれば分散させるのに時間を要したり、不溶部分が濃縮して不適当であり、 $10^{-5}$ Eq/l以下であれば分子集合体を形成せず、単分子で分散溶解して不適当であ

問題点を解決するための手段

すなわち、本発明は、一般式



(式中のXはハロゲン原子、Rはドデシル基、

nは1~6の整数である)

で表わされる両親媒性ペプチドを、アルカリ金属カチオンまたはアルカリ土類金属カチオンと共に蒸留水に分散させる際、金属カチオンの種類または金属カチオンの濃度を調節することを得る短繊維型螺旋状分子集合体の長さ制御方法を提供するものである。この一般式におけるXはハロゲン原子であり、このようなものとして塩素原子、臭素原子などがある。Rは、炭素数12のドデシル基である。炭素数が12以下であると、水中での会合力が弱くなり、逆に炭素数が12以上であると、

り、分散濃度は $10^{-5}$ ~ $10^{-1}$ Eq/lが望ましい。この水分散液に、アルカリ金属カチオンあるいはアルカリ土類金属カチオンを加える。この時、金属カチオンを直接加える代わりに、アルカリ金属カチオンあるいはアルカリ土類金属カチオンを予め所定量溶解させた蒸留水を両親媒性ペプチドに加えても構わない。両親媒性ペプチドに対するモル比は、0.5当量から10当量が望ましい。0.5当量以下であると、長さを15 $\mu$ m以下に制御することが困難であり、10当量以上であると逆に短繊維型の分子集合体を得るのに長時間を要する。アルカリ金属カチオンとしては、ナトリウム、カリウムなどの塩化物、炭酸塩、硫酸塩が、アルカリ土類金属カチオンとしては、バリウム、カルシウムなどの塩化物、炭酸塩、硫酸塩が人手しやすく安価であり、好ましい。両親媒性ペプチドと金属カチオンを含む水分散液にバス型またはプローブ型超音波照射装置を用いて超音波処理を行う。その後、室温下1日から約2週間ほど熟成することによって目的の長さを有する短繊維型の螺旋状分子集合体を含

むコロイド状、または透明水分散液を得ることができる。熟成時間が同じであれば、金属カチオンの両親媒性ペプチドに対するモル比が高ければ高いほど、またアルカリ金属カチオンを用いた場合よりアルカリ土類金属カチオンを用いた場合の方が、より短い螺旋状分子会合体が得られる。分子会合体の長さ及び形態は顕微鏡コンデンサーを備えた光学顕微鏡で容易に確認できる。

この両親媒性ペプチドを合成する際の原料化合物として用いられるグルタミン酸ジドデシルアミド臭化水素酸塩は例えば、アミノ基を保護したグルタミン酸を、ヒドロキシサクシイミドと反応させて二官能性エステルとし、ついでドデシルアミンと反応させて、最後にアミノ基を脱離させることによって得られる。

また、もう一方の原料化合物のオリゴペプチドは、通常よく知られている液相ペプチド合成法によって得られる。

#### 発明の効果

#### (A) L-グルタミン酸ジドデシルアミド臭化水素酸塩の製造

ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミン酸 5g (0.0178mol) と N-ヒドロキシサクシイミド 4.09g (0.0356mol) をジメチルホルムアミド 30ml に溶解させ、0℃でかくはんしながら、ジシクロヘキシルカルボジイミド 8.07g (0.0391mol) が溶解したジメチルホルムアミド溶液 10ml を加えた。0℃で一晩かくはんし、不溶性の副生成物を濾過し、ろ液を減圧除去して得た無色透明液状物をエーテルで固くさせた。酢酸エチル/イソプロパノールから再結晶して得たL-グルタミン酸のヒドロキシサクシイミドエステル誘導体(融点73~74℃) 1g (0.0021mol) とドデシルアミン 0.78g (0.0042mol) をクロロホルム 10ml に溶解し、2日間、室温で放置した。反応液を4%炭酸水素ナトリウム水溶液、蒸留水で洗浄し、溶媒を減圧下除去すると白色固体が得られた。エーテル、メタノールで洗浄し、融点138~139℃の化合物 1.17g (収率91%) が得ら

れた。本発明の制御方法により、生体脂質からは得ることができない短繊維型の螺旋状分子会合体の長さを15μm以下の任意の均一な長さにすることができる。分子会合体を何等かの方法によって金属コーティングすることで精密工業部品として、また蒸留水中にあらかじめ、医薬、染料、化粧品、その他の有用化学物質を入れておくことによって、分子会合体中にそれら有用物質が導入された螺旋状の分子会合体が得られる。

次に、本発明を実施例によりさらに詳細に説明する。薄層クロマトグラフィーのR<sub>f</sub>値としては、クロロホルム/メタノール(5/1、容積比)混合溶媒を展開溶媒とした時の値をR<sub>f</sub>1、クロロホルム/メタノール/酢酸(95/5/1、容積比)混合溶媒を展開溶媒とした時の値をR<sub>f</sub>2、n-ブタノール/酢酸/水(4/1/2、容積比)混合溶媒を展開溶媒とした時の値をR<sub>f</sub>3とした。

#### 参考例 1

れた。この化合物0.83g (0.00135mol) に 25%臭化水素/酢酸溶液4.2mlを2時間反応させ、生成した沈澱物をエーテルに溶解し、溶媒を除去した残留物を水/クロロホルム/メタノール混合溶媒から再結晶して融点118~122℃の目的化合物を得た。このものの物理的性質は次の通りである。

薄層クロマトグラフィーのR<sub>f</sub>値

R<sub>f</sub> 1 = 0.49 , R<sub>f</sub> 2 = 0.03

元素分析値(C<sub>22</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>B<sub>1</sub>として)

	C	H	N
計算値(%)	61.90	10.75	7.47
実測値(%)	61.57	10.69	7.61

#### (B) L-プロリル-L-プロリル-L-プロリル-L-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩の製造

L-ベンチルオキシカルボニル-L-プロリル-L-プロリル-L-プロリン 0.30g (0.000733mol) とL-グルタミン酸ジドデシルアミド臭化水素酸塩 0.49g (0.000879mol) をジメチルホルムアミド 50ml に

溶解し、0℃でかくはんしながら、ジエチルフォスフォロシアニデート0.15g (0.0008791g)を含むジメチルホルムアミド溶液2ml、引き続いてトリエチルアミン0.23mlを含むジメチルホルムアミド溶液2mlを加えた。0℃で6時間かくはんした後、室温で一晩かくはんした。反応液にクロロホルムを100ml加え、10%クエン酸水溶液、4%炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水、蒸留水で各二回ずつ洗浄し、クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を除去し、残留オイルをシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製した。得られた無色シロップ(Rf1=0.61、Rf3=0.64)0.47gをクロロホルムに分散し、4N塩化水素/酢酸エチル4mlと1時間、室温で反応させた。溶媒を除去して得られた無色シロップを水/メタノール/クロロホルムで再結晶して、融点99-91℃の白色固体の目的化合物410mg(収率93%)を得た。このものの物理的性質は次の通りである。

薄層クロマトグラフィーのRf値

8)をビーカーにとりこれに、炭酸バリウム12.2mg ( $8.2 \times 10^{-5}$ g)を溶解させた蒸留水10mlを加えた。これをプローブ型超音波装置(出力40W)を用いて70℃で1分間、超音波処理し、室温で13日間放置した。こうして、顕微鏡観察から、サンプル87本の平均長さが2.8μm、最高長さが3.5μm、最低長さが2.3μmの短繊維型の螺旋状分子会合体が分散したコロイド状溶液を得た。

#### 実施例 2

l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩10mg ( $1.24 \times 10^{-5}$ g)をビーカーにとりこれに、塩化バリウム30mg ( $1.24 \times 10^{-4}$ g)を溶解させた蒸留水10mlを加えた。これをバス型超音波装置(出力80W)を用いて、70℃で10分間処理し、13日間室温で放置した。こうして、顕微鏡観察から、サンプル76本の平均長さが3.0μm、最高長さが3.8μm、最低長さが2.5μmの短繊維型の螺旋状分子会合体が分散したコロイド状溶液を得た。

Rf1=0.30      Rf3=0.10

元素分析値(C<sub>44</sub>H<sub>84</sub>O<sub>8</sub>N<sub>2</sub>C<sub>12</sub>・H<sub>2</sub>Oとして)

	C	H	N
計算値(%)	83.86	10.11	10.16
実測値(%)	83.61	9.95	10.03

(C) 参考例1の(B)におけるl-プロチオキシカルボニル-l-プロリル-l-プロリル-l-プロリンの代わりにl-プロチオキシカルボニル-l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-プロリンを用いて、同様な操作によって融点76-78℃の白色固体のl-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩の目的化合物を得た。

#### 実施例 1

l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩10mg ( $1.24 \times 10^{-5}$ g)

#### 実施例 3

l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩10mg ( $1.24 \times 10^{-5}$ g)をビーカーにとりこれに、塩化カリウム9.2mg ( $1.24 \times 10^{-4}$ g)を溶解させた蒸留水10mlを加えた。これをプローブ型超音波装置(出力40W)を用いて70℃で1分間、超音波処理し、室温で1日間放置した。こうして、顕微鏡観察から、サンプル75本の平均長さが3.7μm、最高長さが4.9μm、最低長さが2.9μmの短繊維型の螺旋状分子会合体が分散したコロイド状溶液を得た。

#### 実施例 4

l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩10mg ( $1.24 \times 10^{-5}$ g)をビーカーにとりこれに、炭酸バリウム2.9mg ( $1.24 \times 10^{-5}$ g)を溶解させた蒸留水10mlを加えた。これをプローブ型超音波装置(出力40W)を用いて70℃で1分間、超音波処理し、室温で13日間放置した。こうして、顕微鏡観察から、サンプル87

本の平均長さが $6.3\mu\text{m}$ 、最高長さが $7.7\mu\text{m}$ 、最低長さが $5.0\mu\text{m}$ の短繊維型の螺旋状分子会合体が分散したコロイド状溶液を得た。

## 実施例 5

l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩 $10\text{mg}$  ( $1.10\times 10^{-5}\text{mol}$ ) をビーカーにとりこれに、塩化カリウム $4.1\text{mg}$  ( $5.51\times 10^{-5}\text{mol}$ ) を溶解させた蒸留水 $10\text{ml}$ を加えた。これをバス型超音波装置(出力 $80\text{W}$ )を用いて、 $70^\circ\text{C}$ で10分間処理し、1日間室温で放置した。こうして、顕微鏡観察から、サンプル100本の平均長さが $8.9\mu\text{m}$ 、最高長さが $10.1\mu\text{m}$ 、最低長さが $7.2\mu\text{m}$ の短繊維型の螺旋状分子会合体が分散したコロイド状溶液を得た。

## 実施例 6

l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-プロリル-l-グルタミン酸ジドデシルアミド塩酸塩 $10\text{mg}$  ( $1.10\times 10^{-5}\text{mol}$ ) をビーカーにとりこれに、塩化

カリウム $0.8\text{mg}$  ( $1.10\times 10^{-5}\text{mol}$ ) を溶解させた蒸留水 $10\text{ml}$ を加えた。これをバス型超音波装置(出力 $80\text{W}$ )を用いて、 $70^\circ\text{C}$ で10分間処理し、1日間室温で放置した。こうして、顕微鏡観察から、サンプル100本の平均長さが $11.7\mu\text{m}$ 、最高長さが $13.6\mu\text{m}$ 、最低長さが $9.3\mu\text{m}$ の短繊維型の螺旋状分子会合体が分散したコロイド状溶液を得た。

官 庁 手 続  
手 続 補 正 書

平成2年2月20日

特許庁長官 宮 田 文 毅 閣下

[正]

## 1. 事件の表示

平成1年特許第235169号

## 2. 発明の名称

短繊維型螺旋状分子会合体の長さ制御方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

東京都千代田区墨田1丁目3番1号

(114) 工業技術院長 杉 浦 賢

## 4. 指定代理人

茨城県つくば市東1丁目1番4

(0034) 工業技術院繊維高分子材料研究所

須 田 昌 男

## 5. 補正命令の日付

自発

## 6. 補正により増加する請求項の数

0

方式 関  
審 査

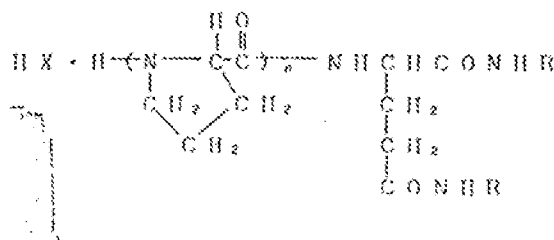
## 7. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄及び発明の詳細な説明の欄

## B. 補正の内容

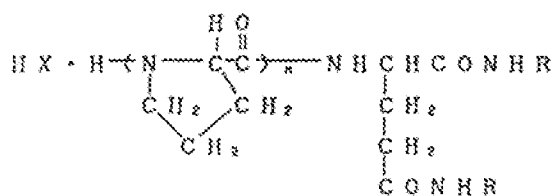
(1) 特許請求の範囲を別紙のとおり訂正します。

(2) 明細書第4ページ第4~7行の「化学式」を以下のとおり訂正します。



特許請求の範囲

一般式



(式中のXはハロゲン原子、Rはドデシル基、  
nは1～6の整数である)

で表わされる両親水性ペプチドを、アルカリ金属カチオンまたはアルカリ土類金属カチオンと共に蒸留水に分散させる際、金属カチオンの種類または金属カチオンの濃度を調節することを特徴とする超繊維型螺旋状分子集合体の長さ制御方法。